Caracterización de *Typhlocybella maidica* (Hemiptera: Cicadellidae) y descripción del daño producido en plantas de maíz y gramíneas asociadas en la Argentina

BRENTASSI, María E. */, María I. CATALANO*, Susana PARADELL * y Ana M. MARINO de REMES LENICOV ***

* División Entomología y ** Laboratorio de Morfología Vegetal. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina; e-mail: eubrenta@fcnym.unlp.edu.ar

Characterization of *Typhlocybella maidica* (Hemiptera: Cicadellidae) and description of the damage caused in maize plants and associated gramineous in Argentina

■ **ABSTRACT.** In surveys performed during 2006-2008 in order to identify the specific composition of auchenorrhynchous present in maize crops in the central area of Argentina, high densities of leafhoppers belonging to the *Typhlocybinae* subfamily were found in several sites associated with damage to corn leaves. This finding prompted the first mention of the *Typhlocybella* Baker genus for Argentina, and also the description of a new species: *Typhlocybella maidica* Catalano. The objective was to describe the feeding damage caused by *T. maidica* on its host plants and to show its main characteristics for identification. *T. maidica* is recognized by its small size (3mm), brown-yellowish color with two lateral fuscous spots on its crown, forewings with orange and brown marks, and the typical short and active flight movement among host plants. The damage produced consisted in typical chlorotic areas arranged in zigzag, on both foliar epidermises. Microscopic examination revealed lost of chloroplasts in mesophyll and vascular bundle parenchymal sheath cells and changes in the morphology of the chloroplasts of the bundle sheath. Also, the presence of salivary deposits particularly in relation to phloem was observed. *T. maidica* feeds primarily from mesophyll cell contents using the cell rupturing feeding strategy. The high frequency of leaf injuries on maize stimulates the pursuit of new studies in order to evaluate the importance of the damages caused by this species, as well as to determine if they play a role in the health of the crop.

KEY WORDS. *Zea mays*. Leafhopper. Typhlocybinae. *Sorghum vulgare*. *Digitaria sanguinalis*.

■ **RESUMEN.** Los muestreos realizados en el área maicera centro de la Argentina durante las campañas 2006-2008, con el fin de identificar la composición específica de auquenorrincos presentes, permitieron detectar altas densidades de "chicharritas", pertenecientes a la subfamilia Typhlocybinae, que causaban evidentes daños. Este hallazgo motivó la primera mención para la Argentina del género *Typhlocybella* Baker y la descripción de una nueva especie: *Typhlocybella maidica* Catalano. El objetivo fue describir

Recibido: 18-I-2010; aceptado: 5-IV-2010

los perjuicios ocasionados por la alimentación de *T. maidica* sobre sus hospederos naturales y dar a conocer las características más sobresalientes para su identificación. *T. maidica* se reconoce por su pequeño tamaño (3mm), coloración castaño-amarillenta con dos manchas fuscas a ambos lados de la corona, alas anteriores con manchas anaranjadas y castañas, y por su característico vuelo corto y rápido entre las plantas hospederas. El daño consiste en típicas áreas cloróticas alineadas en zig-zag sobre ambas epidermis foliares. El examen microscópico reveló la pérdida de cloroplastos de las células del mesófilo y de la vaina parenquimática que rodea al haz vascular, así como una alteración morfológica de aquellos presentes en la vaina. Depósitos salivales, asociados particularmente con el floema, también fueron detectados. *T. maidica* se alimenta principalmente del contenido de las células del mesófilo, usando la estrategia de alimentación conocida como "cell-rupturing". La alta frecuencia de lesiones observadas sobre el maíz, motiva a proseguir con los estudios de evaluación de perjuicios causados por esta especie y de su importancia en la sanidad del cultivo.

PALABRAS CLAVE. *Zea mays*. Chicharrita. Typhlocybinae. *Sorghum vulgare*. *Digitaria sanguinalis*.

INTRODUCCIÓN

Durante las campañas 2006-2008 en el área centro de la Argentina, se realizaron prospecciones con miras a detectar especies vectoras de las enfermedades más severas del maíz: Corn Stunt Spiroplasma (CSS. Giménez Pecci *et al.*, 2002; Virla *et al.*, 2004) y Mal de Río Cuarto (MRCV. Remes *et al.*, 1985; March *et al.*, 1997; Laguna *et al.*, 2002). Las mismas permitieron registrar altas densidades de "chicharritas" de la subfamilia Typhlocybinae, que causaban evidentes daños en el cultivo. Este hallazgo originó la primera mención para la Argentina del género *Typhlocybella* Baker (Catalano *et al.*, 2008) y la descripción de una nueva especie para la ciencia: *Typhlocybella maidica* Catalano (Catalano *et al.*, 2009).

El comportamiento alimentario de hemípteros auquenorrincos ha sido ampliamente estudiado a causa del daño directo que provocan sobre sus hospederos naturales y por transmitir enfermedades a las plantas (Miles, 1972; Sogawa, 1982; Backus, 1985; Nault & Ammar, 1989; Nielsen *et al.*, 1990). Los daños de alimentación de los tiflocibinos en particular, referidos como *hopperburn*, han merecido especial atención en el mundo por los severos efectos relacionados con la producción de secreciones salivales y la acción mecánica de los estiletes durante la prueba e ingestión (Backus *et al.*, 2005). Son conocidas las estrategias de alimentación y el tipo de lesiones producidas por especies del género *Empoasca* Walsh sobre *Medicago sativa* L. y *Phaseolus vulgaris* L., a través de estudios realizados en otras latitudes (Kabrick & Backus, 1990; Calderón & Backus, 1992; Ecale & Backus, 1995a,b). Sin embargo, en la Argentina, no existen contribuciones acerca de la actividad alimentaria de los tiflocibinos.

Debido a la frecuencia de *T. maidica* sobre los cultivos de *Zea mays* L., *Sorghum vulgare* L. y *Digitaria sanguinalis* (L). Scop., maleza asociada a dichos cultivos, el objetivo de esta contribución fue describir los daños causados por la alimentación de esta especie y, también, dar a conocer las características más sobresalientes para facilitar su identificación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ejemplares de *T. maidica* se capturaron con red entomológica de arrastre y aspirador manual en diferentes

localidades de la provincia de Buenos Aires (Chacabuco, Chivilcoy, Junín y Saladillo), durante los meses de diciembre, enero y febrero, en las campañas 2006-2008. La cría experimental se llevó a cabo bajo condiciones naturales sobre plantas de maíz, sorgo y *D. sanguinalis*. Las plantas de maíz y sorgo se obtuvieron de semillas y se utilizaron en estado de 2 a 3 hojas. Las de *D. sanguinalis* se transplantaron desde el campo en estado reproductivo. En todos los casos, se utilizaron macetas plásticas de 1 dm^3 con tierra fértil. Cada maceta contenía una de las especies hospederas (2-3 plantas), se las cubrió con una jaula cilíndrica de PET (polietilen- tereftalato) de 36-37 cm de alto por 12-14 cm de diámetro, con voile en la parte superior con el fin de permitir la aireación. Los caracteres diagnósticos de esta especie se analizaron a partir de ejemplares disecados para el examen con microscopio estereoscópico según Paradell (1995), para las ilustraciones se utilizó una cámara clara y cámara fotográfica digital Sony Cyber Shot 7.2.

Los daños macroscópicos producidos por *T. maidica* sobre sus hospederos naturales se describieron a partir de las observaciones a campo y desde las plantas utilizadas para el mantenimiento de los insectos en cautiverio. Para el estudio a nivel tisular, se colocaron ejemplares de *T. maidica* sobre plantas de maíz y sorgo por 24 hs. Luego de este período, pequeños trozos de hojas afectadas y testigo (1cm x 1cm) se fijaron con solución de FAA (formol: 10 ml; ácido acético: 5 ml; alcohol etílico 96º : 50 ml y agua destilada: 35 ml), se deshidrataron en una serie creciente de alcohol etílico y se incluyeron en parafina (Paraplast). Los cortes seriados (10-12 µm espesor) se obtuvieron utilizando un micrótomo rotativo tipo Minot y se colorearon con safranina fast-green según O'Brien & Mc Cully (1981). Para la observación y registro de los daños, se utilizó un microscopio Nikon con cámara digital.

A fin de caracterizar la composición de la excreción de *T. maidica,* se aplicó la metodología desarrollada por Khan & Saxena (1984). Un papel de filtro Whatman Nº 1 de 9 cm de diámetro se colocó en la base de las plantas de maíz, los mismos se retiraron luego de 24 hs. de exposición de los insectos y se rociaron con una solución de ninhidrina en acetona al 1 %. Se colocaron 4 individuos por planta y se realizaron 5 repeticiones. La utilización de la ninhidrina permite identificar la presencia de aminoácidos en la excreción, lo que indicaría la ingestión de fluidos floemáticos (Heinrichs *et al.*, 1985; Paguia *et al.*, 1980).

RESULTADOS

Características relevantes de *Typhlocybella maidica*

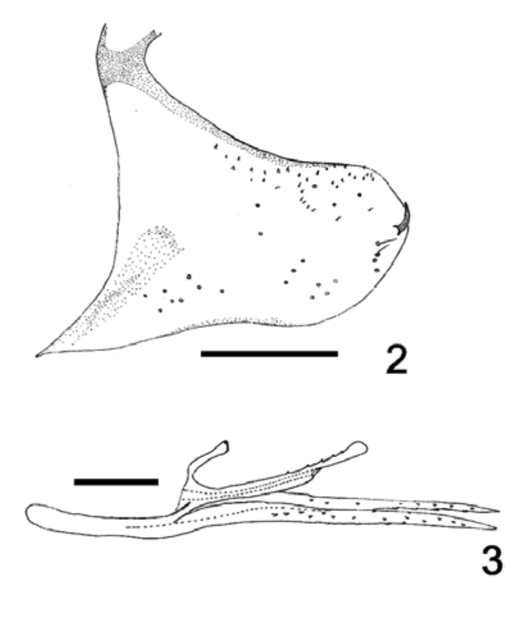
Se reconoce a campo por su pequeño tamaño (longitud del cuerpo: 3 mm); coloración castaño-amarillenta y por su corto y activo movimiento de vuelo entre las plantas hospederas. Los principales caracteres diagnósticos para su identificación en laboratorio son: presencia de dos manchas fuscas laterales a lo largo de una mancha mediana blanquecina en forma de "T", extendida desde la corona hasta el pronoto, alas anteriores con manchas anaranjadas y castañas (Fig.1); genitalia del macho: *pygofer* con un corto proceso dorso-caudal en forma de espina, dirigido hacia arriba (Fig. 2), *aedeagus* con un par de procesos ventrales sub-paralelos orientados caudalmente con pequeñas espinas en toda su superficie (Fig. 3).

Daños de alimentación

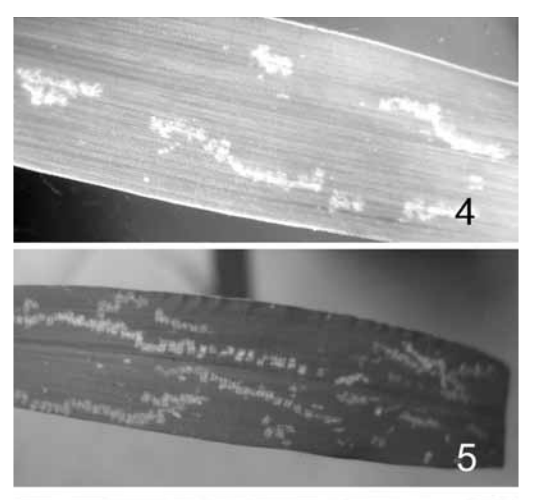
El daño visualizado en el campo sobre las plantas hospederas consistió en típicas áreas cloróticas dispuestas en zig-zag, producidas a lo largo del recorrido realizado por el insecto durante su alimentación. Los ensayos preliminares en el laboratorio permitieron registrar que un individuo produce un daño aproximado de 0.1 cm^2/hora de alimentación. Las lesiones se detectaron sobre ambas epidermis foliares (Figs. 4-6). Sobre las plantas de *D. sanguinalis* utilizadas para la cría de *T. maidica*, se observó una gran parte de la superficie foliar afectada;



Fig. 1. Vista general de *Typhlocybella maidica*. Escala = 1 mm.



Figs. 2, 3. Genitalia del macho. 2: *pygofer*, vista lateral; 3: *aedeagus*. Escala = 0.1 mm



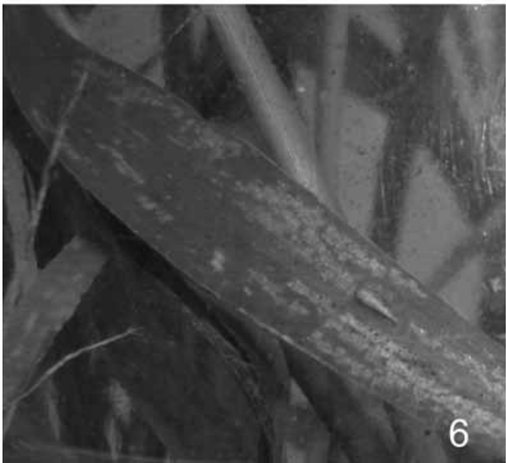
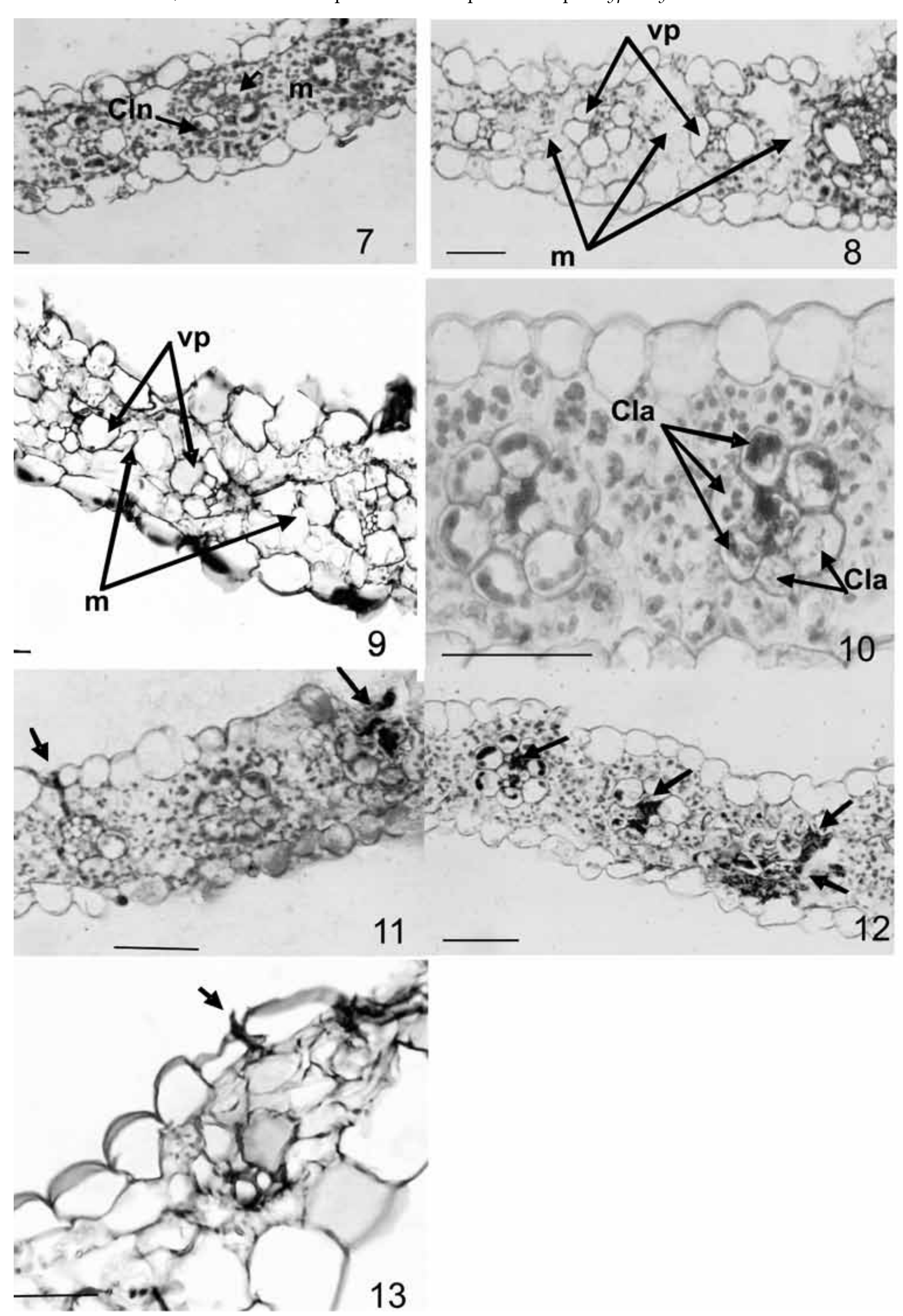


Fig. 4-6. Daño típico de alimentación producido por *Typhlocybella maidica* sobre sus hospederos: 4: *Zea mays*; 5,6: *Digitaria sanguinalis*.5: luego de 24 hs de alimentación; 6: luego de 72 hs. de alimentación.

el daño se incrementa debido al mayor período de exposición con los insectos (Fig. 6). De acuerdo a los registros obtenidos, *D. sanguinalis* puede considerarse como un hospedero favorable para mantener poblaciones de *T. maidica* en cautividad.

El examen microscópico de la zona afectada reveló la pérdida de cloroplastos de las células del mesófilo y de la vaina parenquimática que rodea el haz vascular (Figs. 7-9), y una alteración de la morfología de aquellos presentes en la vaina del haz (Fig. 10). Conjuntamente con los daños anteriormente descriptos, se observó la presencia de depósitos salivales vertidos



Figs. 7-13. Daños microscópicos producidos por *Typhlocybella maidica* en los tejidos foliares. 7: hoja testigo, cloroplastos con estructura normal (Cln); 8-9: células del mesófilo (m) y vaina parenquimática (vp) sin cloroplastos; 10: morfología anormal de los cloroplastos (Cla); 11-12: depósitos salivales en asociación con los haces vasculares, lúmenes de las células del floema obstruidos con saliva; 13: depósito a nivel de la epidermis, se evidencia la penetración intercelular de los estiletes. 7,8,11,12: *Sorghum vulgare*; 9,10,13: *Zea mays*. Escala = 50 µm.

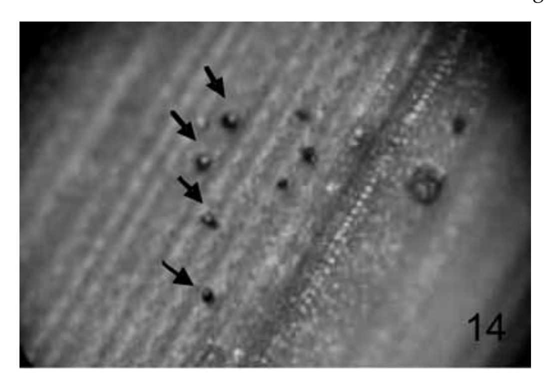


Fig. 14. Gotas de excreción verdosas de *Typhlocybella maidica* luego de la alimentación sobre hojas de maíz.



Fig. 15. Reacción básica de las gotas de excreción de *Typhlocybella maidica* colectadas sobre papel de filtro y teñidas con solución de ninhidrina.

durante la alimentación de *T. maidica*; estos depósitos fueron detectados tanto a nivel de la epidermis, lo que evidencia una penetración intercelular de los estiletes (Figs. 11,13), como en asociación con los tejidos vasculares, particularmente con el tejido floemático, llenando parcial o totalmente el lumen de las células (Figs. 11,12).

Las observaciones realizadas durante la alimentación permitieron detectar pequeñas gotas de excreción verdosa depositadas sobre las hojas de maíz (Fig. 14). Las gotas colectadas sobre papel de filtro se tiñeron de color violáceo, luego del tratamiento con la solución de ninhidrina (reacción básica), lo que indica la presencia de aminoácidos (Fig.15).

DISCUSIÓN

T. maidica exhibe un comportamiento alimentario similar al descripto para otros tiflocibinos suctores tales como *Zyginidia scutellaris* Herrich-Schaeffer (Marion-Poll *et al*., 1987) y *Empoasca* spp. (Günthardt & Wanner, 1981; Kabric & Backus, 1990). La conducta de estos insectos, detalladamente descripto por Backus *et al.* (2005), es conocida como "cell-rupturing", en referencia al tipo de daño ocasionado sobre sus hospederos. Las típicas manchas cloróticas alineadas en zig-zag, asociadas con la actividad alimentaria de *T. maidica,* se asemejarían al daño causado por los tiflocibinos que utilizan el método de "stipplers", producen "stipple marks", patrón descripto por Backus *et al.* (2005) para *Empoasca abrupta* DeLong y *Z. scutellaris* sobre leguminosas y maíz respectivamente.

La excreción de gotas verdosas, así como la pérdida de cloroplastos de las células del mesófilo y de la vaina parenquimática que rodea al haz vascular, permiten inferir que *T. maidica* se alimenta activamente del contenido de estas células. La presencia de depósitos salivales relacionados con los haces vasculares (particularmente con el floema) y la tinción de las gotas de excreción con la solución de ninhidrina indican, además, la succión de savia de este tejido. Los estudios realizados por Backus (1994) demostraron la ingestión de clorofila por ninfas de *Empoasca fabae* (Harris) y la succión desde el floema fue registrada, para tiflocibinos, por Günthardt & Wanner (1981) y Ecale & Backus (1995a).

La alteración de la morfología de los cloroplastos en la zona afectada, probablemente esté relacionada con la desorganización de las membranas tilacoidales, lo cual concuerda con los daños producidos por *E. fabae* sobre las hojas de *Medicago sativa* L. (Kabrick & Backus, 1990) y los provocados sobre las hojas de maíz por el fulgoromorfo *Delphacodes kuscheli* Fennah, principal vector del *Mal de Río Cuarto virus* (MRCV) en la Argentina (Brentassi & Maldonado, 2002).

Los depósitos salivales producidos por

T. maidica sobre las hojas de maíz y sorgo son semejantes al patrón tenue descripto por Kabrick & Backus (1990) para *Empoasca fabae* en los tallos de alfalfa, los cuales no bloquean directamente el floema (Ecale & Backus, 1995a,b). Estos depósitos son distintos a los depositados durante la alimentación de hemípteros esternorrincos y auquenorrincos (Delphacidae), conocidos como "*salivary-sheaths",* los cuales son secretados en abundante cantidad y provocan el bloqueo local de los fluidos vasculares (Watanabe & Kitagawa, 2000; Brentassi & Maldonado, 2002).

Estudios futuros prevén la cuantificación de los daños producidos por *T. maidica* sobre el cultivo de maíz, a fin de determinar las densidades capaces de influir sobre la fisiología del cultivo. Asimismo, debido a la conocida capacidad vectora de virus y fitoplasmas de representantes de los Typhlocybinae, se proyecta proseguir con estudios de evaluación de la importancia de esta especie en la sanidad del cultivo.

CONCLUSIONES

El presente estudio constituye el primero en referencia a los daños causados en el maíz por un Typhlocybinae, grupo en que, en otras latitudes, sus especies son plagas reconocidas por su capacidad vectora de patógenos. Los daños de alimentación producidos por *T. maidica* indican que esta especie se alimenta principalmente del contenido de las células del mesófilo, así como también de fluidos vasculares extraídos del floema. A nivel macroscópico, se pueden observar, sobre las hojas de los hospederos, típicas áreas cloróticas dispuestas en zig-zag producidas por el insecto a lo largo del recorrido realizado. Futuros ensayos prevén cuantificar los daños causados por *T. maidica,* así como evaluar su capacidad para vehiculizar patógenos que afectan el maíz.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen especialmente a Andrea Toledo por su colaboración en las tareas de campo, la captura de ejemplares vivos de *T. maidica* y el mantenimiento de la cría en laboratorio. También a Miguel Serrano por las valiosas sugerencias aportadas durante la elaboración del manuscrito. Este estudio ha sido parcialmente financiado por CIC, CONICET, FONCYT- PICT 08-15029 y UNLP (N 468).

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. BACKUS, E. A. 1985. Anatomical and sensory mechanisms of Leafhopper and Planthopper Feeding Behavior. *En:* John Wiley & Sons (eds). *The Leafhoppers and Planthoppers*, L. R. Nault & J. G Rodríguez, New York, pp. 163-194.
2. BACKUS, E. A. 1994. History, development, and applications of the AC electronic monitoring system for insect feeding. *En*: Ellsbury, M. M., E. A Backus., D. L. Ullman (eds). *History, development, and application of AC electronic insect feeding monitors*. Entomological Society of America, Lanham, MD, pp. 1-51.
3. BACKUS, E. A., M. SERRANO & C. RANGER. 2005. Mechanisms of hopperburn: An overview of Insect Taxonomy, Behavior and Physiology. *Annu. Rev. Entomol.* 50: 125-151.
4. BRENTASSI, M. E. & S. MALDONADO. 2002. Penetration and feeding damage produced by *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera, Fulgoromorpha, Delphacidae) on maize and barley leaves. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* 38 (3): 271-276.
5. CALDERÓN, J. D. & E. A. BACKUS. 1992. Comparison of the probing behaviors of *Empoasca fabae* and *E. krameri* (Homoptera: Cicadellidae) on resistant and susceptible cultivars of common beans. *J. Econ. Entomol.* 85 (1): 88-99.
6. CATALANO, M. I., S. L. PARADELL & A. M. M. DE REMES LENICOV. 2008. First record of the genus *Typhlocybella* (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Typhlocybinae: Dikraneurini) from Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 67 (3-4):117-119.
7. CATALANO, M. I., S. L. PARADELL & A. M. M. DE REMES LENICOV. 2009. *Typhlocybella maidica* (Hemiptera: Cicadellidae: Typhlocybinae: Dikraneurini), new species from Argentina. *Zootaxa* 2118: 65–68.
8. ECALE, C. L. & E. A. BACKUS. 1995a. Time course of anatomical changes to stem vascular tissues of alfalfa, *Medicago sativa* L., from probing injury by the potato leafhopper, *Empoasca fabae* (Harris). *Can. J. Bot.* 73: 288-298.
9. ECALE, C. L. & E. A. BACKUS. 1995b. Mechanical and salivary aspects of potato leafhopper probing in alfalfa stems. *Entomol. Exp. Appl.* 77: 121-132.

10. GIMÉNEZ PECCI, M., I. LAGUNA, A. ÁVILA, A. M. M. DE REMES LENICOV, E. VIRLA, C. BORGOGNO. C. NOME & S. PARADELL. 2002. Difusión del Corn Stunt Spiroplasma del maíz (*Spiroplasma kunkeli*) y del vector (*Dalbulus maidis*) en la República Argentina. *Rev. Fac. Agron*. 105: 1-8.

11. GÜNTHARDT, M. S. & H. WANNER. 1981. The feeding behavior of two leafhoppers on *Vicia faba*. *Ecol. Entomol*. 6(1):17-22.

12. HEINRICHS, C. A., F. G. MEDRANO & H. R. RAPUSAS. 1985. Brown Planthopper, Whitebacked Planthopper, Green Leafhopper, and zigzag Leafhopper. *Genetic Evaluation for insect: Resistance in rice*. IRRI Los Baños, Laguna, Philippines, pp.71-170.

13. KABRICK, L. & E. A. BACKUS. 1990. Salivary deposits and plant damage associated with specific probing behaviors of the potato leafhopper, *Empoasca fabae*, on alfalfa stems. *Entomol Exp Appl*. 56: 287-304.

14. KHAN Z. R. & R. C. SAXENA. 1984. Technique for demostrating phloem or xilem feeding by Leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) and Planthoppers (Homoptera: Delphacidae) in rice plant. *J. Econ. Entomol*. 77: 550-552.

15. LAGUNA, I. G., A. M. M. DE REMES LENICOV, E. G. VIRLA, A. O. ÁVILA, M. P. GIMÉNEZ PECCI, P. HERRERA, J. GARAY, D. PLOPER & R. MARIANI. 2002. Difusión del virus del Mal de Río Cuarto (MRCV) del maíz, su vector, delfácidos asociados y huéspedes alternativos en Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent*. 61 (1-2): 87-97.

16. MARCH, G. J., J. A. ORNAGHI, J. E. BEVIACQUA & S. L. LENARDÓN. 1997. Manual Técnico del Mal de Río Cuarto. Ed. Morgan.

17. MARION-POLL, F., W. DELLA GIUSTINA & B. MAUCHAMP. 1987. Changes of electric patterns related to feeding in a mesophyll feeding leafhopper *Zyginidia scutellaris*. *Entomol. Exp. Appl*. 43 (2): 115-124.

18. MILES, P. W. 1972. The saliva of Hemiptera. *Adv. Insect. Physiol*. 9: 183-255.

19. NAULT, L. R & E. D. AMMAR. 1989. Leafhopper and planthopper transmission of plant viruses. *Annu. Rev. Entomol*. 34: 503-529.

20. NIELSEN, G., W. LAMP & G. STUTTE. 1990. Potato Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) feeding disruption of phloem translocation in alfalfa. *J. Econ. Entomol*. 83 (3): 807-813.

21. O'BRIEN, T. P & M. E. MCCULLY. 1981. *The study of plant structure: principles and selected methods*. Melbourne, Australia.

22. PAGUIA, P., D. PATHAK & E. HEINRICHS. 1980. Honeydew excretion measurement techniques for determining differential feeding activity of biotypes of *Nilaparvata lugens* on rice varieties. *J. Econ. Entomol*. 73: 35-40.

23. PARADELL, S. L. 1995. Estudio sistemático de los tiflocibinos argentinos del Género *Empoasca* (Homoptera: Cicadellidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent*. 54 (1-4): 113-153.

24. REMES LENICOV, A. M. M DE, A. TESÓN, E. DAGOBERTO & N. HUGUET. 1985. Hallazgo de uno de los vectores del Mal de Río Cuarto en maíz. *Gac. Agron*. 5(25): 251-258.

25. SOGAWA, K. 1982. The rice brown Planthopper: Feeding Physiology and Host Plant Interactions. *Annu. Rev. Entomol*. 27: 49-73.

26. VIRLA, E., C. DÍAZ, P. CARPANE, I. LAGUNA, J. RAMALLO, L. GÓMEZ & M. GIMÉNEZ PECCI. 2004. Evaluación preliminar de la disminución en la producción de maíz causada por el Corn Stunt Spiroplasma (CSS) en Tucumán, Argentina. *Bol. Sanid. Veg. Plagas*. 30: 403-413.

27. WATANABE, T. & H. KITAGAWA. 2000. Photosynthesis and translocation of assimilates in rice plants following phloem feeding by the planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *J. Econ. Entomol*. 93 (4): 1192-1198.